



Formación médica continuada

Marcadores bioquímicos en osteoporosis. Utilidad en la práctica clínica

Carmen M. Romero Barco*, Sara Manrique Arija y Manuel Rodríguez Pérez

Servicio de Reumatología, Hospital Regional Universitario Carlos Haya, Málaga, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 27 de abril de 2011

Aceptado el 17 de mayo de 2011

On-line el 8 de setiembre de 2011

Palabras clave:

Marcadores bioquímicos

Osteoporosis

Fracturas

Variabilidad biológica

Keywords:

Biochemical markers

Osteoporosis

Fracture

Biological variability

R E S U M E N

En la actualidad, la determinación de marcadores bioquímicos de remodelado óseo supone una propuesta novedosa en la evaluación clínica de los pacientes con osteoporosis. El uso de estos biomarcadores podría permitir la identificación de pacientes con mayor riesgo de fractura y monitorizar la respuesta terapéutica. Al tratarse de mediciones no invasivas y relativamente económicas, debería extenderse su empleo, ya que posibilitaría una medición seriada y en intervalos cortos de las variaciones en el recambio óseo. Sin embargo, su variabilidad analítica y biológica limita en la actualidad su aplicabilidad clínica.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Biochemical markers in osteoporosis: usefulness in clinical practice

A B S T R A C T

Currently, the measurement of bone remodeling biomarkers is an innovate proposal in clinical evaluation of patients with osteoporosis. Its use may identify patients at increased risk of fracture as well as monitoring therapeutic efficacy. Because they constitute a relatively inexpensive non-invasive measurement, its use should be widespread for serial and frequent measurements of bone turnover. However, their analytical and biological variability limits their clinical applicability.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

En el adulto, el tejido óseo sufre un constante proceso de recambio en el que participan el osteoclasto, protagonista de la resorción ósea, y el osteoblasto, responsable de la fase compensadora de formación. El ciclo de remodelado óseo se completa en un período de 3-6 meses, predominando la fase formativa sobre la resorptiva. En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre ambos fenómenos. Sin embargo, cuando ocurre un desacoplamiento por predominio de la resorción, se produce pérdida de masa ósea, proceso común en la osteoporosis¹.

En la evaluación clínica del paciente con osteoporosis es esencial la medición cuantitativa de la densidad mineral ósea (DMO), que, al tratarse de un parámetro estático, no aporta información del ritmo de recambio óseo. En cambio, los marcadores bioquímicos del remodelado óseo nos ofrecen un análisis dinámico y global del esqueleto².

Marcadores bioquímicos de remodelado óseo

La matriz orgánica del hueso está constituida por colágeno tipo I en un 90%. Durante el proceso de degradación extracelular se liberan péptidos de los extremos carboxi y aminoterminal de las moléculas de protocógeno, que son los que pasan al torrente sanguíneo³. Los marcadores bioquímicos de remodelado óseo miden estos productos generados durante el proceso de formación o degradación de la matriz ósea y pueden determinarse en sangre y orina. Su análisis repetido en intervalos cortos permite una evaluación del recambio óseo de forma seriada. Los marcadores óseos que miden la actividad osteoblástica se denominan de formación y los que derivan del número o la actividad de los osteoclastos son los llamados marcadores de resorción⁴ (tabla 1).

Marcadores de formación

Para la medición de la actividad formadora del hueso existen varios marcadores clínicamente útiles: fosfatasa alcalina, osteocalcina y los péptidos de extensión del protocógeno I.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: menchu01@hotmail.com (C.M. Romero Barco).

Tabla 1
Marcadores de remodelado óseo

| Marcadores de formación | Marcadores de resorción |
|---|---|
| Suero | Suero |
| Fosfatasa alcalina total (FA) | Fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP) |
| Fosfatasa alcalina ósea (FAO) | Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (ICTP) |
| Osteocalcina (OC) | β -CrossLaps (β -CTX) |
| Propéptido C-terminal del protocólágeno tipo I (PICP) | Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I (NTX) |
| Propéptido N-terminal del protocólágeno tipo I (PINP) | |
| | Orina |
| | Excreción urinaria de calcio |
| | Hidroxiprolina |
| | Piridinolina (Pir) |
| | Deoxipiridinolina (Dpir) |
| | Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (ICTP) |
| | α -CrossLaps (α -CTX) |
| | Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I (NTX) |

Adaptada de: Torres et al. Endocrinol Nutr 2003;50(6):72.

La actividad de la fosfatasa alcalina procede de diversos tejidos, tales como hígado, hueso, placenta, etc., siendo las isoformas ósea y hepática las más frecuentes (90%). Ambas se encuentran en la misma proporción en el individuo sano y se diferencian en el patrón de glucosilación, existiendo una actividad cruzada en un 10-20%, según estudios con anticuerpos monoclonales⁵. La isoforma ósea posee la ventaja de no presentar variación entre sexos y no estar influida por el ritmo circadiano, de forma que, a pesar de presentar una baja sensibilidad y especificidad en el estudio de la enfermedad metabólica ósea, resulta ser un marcador sencillo en ausencia de gestación y patología hepática⁶.

La osteocalcina es la proteína no colágena más abundante de la matriz extracelular. Específica del hueso y la dentina, se encuentra elevada en situaciones de recambio óseo acelerado, posee una vida media corta y se elimina por vía urinaria, por lo que sus niveles estarán incrementados en situaciones de insuficiencia renal⁷. Su función exacta en el remodelado óseo no está bien establecida. En trabajos recientes, se ha analizado el papel que podría desempeñar la osteocalcina infracarboxilada en la predicción de masa ósea y de riesgo de fractura⁸.

A ser el colágeno tipo I el principal producto de síntesis del osteoblasto, los propéptidos carboxi y aminoterminales serían, teóricamente, los marcadores ideales de formación ósea. Sin embargo, el hecho de que el colágeno tipo I aparezca también en otros tejidos distintos del hueso, limita su uso en el estudio de la patología metabólica ósea⁹.

Marcadores de resorción

Históricamente, el calcio urinario fue la primera prueba utilizada para evaluar la resorción ósea. Sin embargo, el hecho de estar influida por diversos factores, tales como la ingesta cálcica, la absorción intestinal o el umbral renal de excreción de calcio, la convierte en una determinación con escasa sensibilidad y especificidad, por lo que actualmente está en desuso. Lo mismo ocurre con la hidroxiprolina urinaria: su origen tisular diverso y la influencia que sobre ella ejerce el aporte dietético hacen que sea considerada una prueba de bajo rendimiento¹.

Las moléculas de colágeno en la matriz ósea están enlazadas mediante enlaces covalentes de piridinolinas (Pir) y deoxipiridinolinas (Dpir) formando fibrillas. Las primeras se encuentran también en el cartílago; sin embargo, las Dpir son más específicas del hueso¹⁰. No requieren precauciones dietéticas, ya que no se absorben por vía intestinal. Expresan bien situaciones de cambio

de metabolismo óseo: se elevan en la niñez, menopausia, osteomalacia, hiperparatiroidismo e hipertiroidismo, y descienden bajo el tratamiento con estrógenos y bisfosfonatos¹¹.

Otros elementos liberados durante el proceso de resorción ósea son los telopéptidos carboxiterminales (ICTP, CTX) y aminoterminales (NTX) del colágeno. Han demostrado una correlación significativa con la DMO en mujeres posmenopáusicas, por lo que, actualmente, CTX y NTX se consideran los marcadores de resorción ósea más útiles en la práctica clínica^{12,13}.

La fosfatasa ácida tartrato resistente 5b (FATR 5b) es una enzima lisosómica del osteoclasto involucrada en la degradación del hueso, aunque también está presente en otros tejidos. Su escasa especificidad, unida a la dificultad metodológica de determinación, cuestiona su uso en la actualidad¹⁴.

Otros marcadores bioquímicos del remodelado óseo

Últimamente se han desarrollado nuevos marcadores del recambio óseo cuyo valor clínico está aún en estudio. La catepsina K actúa degradando el colágeno y su nivel en suero reflejaría el número de osteoclastos, por lo que se ha sugerido como marcador de resorción. Los fragmentos urinarios de la osteocalcina también proceden de la resorción de la matriz ósea y parecen ser más específicos. En la valoración de la calidad ósea se vienen considerando especialmente relevantes las modificaciones postrasacionales de las proteínas de la matriz ósea, como la osteocalcina infracarboxilada, las formas nativas e isomerizada de CTX y la pentosidina^{13,15}.

Utilidad clínica de los biomarcadores en la osteoporosis

La aplicación clínica actual más relevante de los marcadores de recambio óseo en la osteoporosis es la evaluación de la respuesta terapéutica. También se ha estudiado su utilidad en la predicción del riesgo de fractura y de pérdida de masa ósea, así como su correlación con la DMO. Sin embargo, los resultados de los trabajos han sido dispares en función del tipo de estudio, la población y el marcador analizados¹⁶. Respecto a la predicción de masa ósea, a pesar de que los biomarcadores óseos evalúan el equilibrio entre formación y resorción y, generalmente, se relacionan de manera inversa con la DMO, estas correlaciones no son lo bastante sólidas como para poder predecir la masa ósea. Por consiguiente, no deben usarse para el diagnóstico de osteoporosis¹⁷.

Control de la eficacia terapéutica

Actualmente, representa el uso clínico mejor establecido. Diversos estudios han demostrado que tras el inicio de la terapia antirresortiva se produce un descenso significativo tanto en los marcadores de resorción (en un plazo de 4 a 6 semanas), como en los de formación ósea (entre 2 y 3 meses). En la mayoría de los casos existe un valor valle que se alcanza entre 2 y 3 meses después del comienzo del tratamiento y se mantiene constante mientras el paciente continúa con el fármaco. Un cambio significativo sería una reducción entre el 40-70% en los marcadores de resorción (CTX en suero y orina y NTX y Dpir en orina), cuando se usa un antirresortivo potente (bisfosfonatos), y descensos más modestos (30-40%) con anticatabólicos menos enérgicos (raloxifeno). Por consiguiente, las modificaciones dependerán del agente terapéutico empleado y del marcador analizado.

De esta manera, el hecho de no observar estos niveles de reducción indicaría una mala adhesión al tratamiento por parte del paciente o la administración inadecuada del fármaco¹⁸⁻²⁰.

El tratamiento osteoformador induce inicialmente un rápido incremento de los marcadores de formación ósea, seguido de un posterior aumento de los marcadores de resorción. En este sentido, diversos trabajos han señalado a los marcadores PICP y, sobre

todo, PINP como los que alcanzan una mayor sensibilidad para predecir cambios de DMO en pacientes tratados con teriparatida. Se ha propuesto un algoritmo de actuación en pacientes tratados con este anabólico en función de la variación detectada en PINP: incrementos superiores a 10 µg en este marcador de formación, 3 meses después de iniciada la terapia, indicarían una respuesta adecuada al mismo^{21,22}.

Aunque resulta conveniente poder disponer de varios marcadores de formación y de resorción, de acuerdo con la evidencia disponible, los marcadores de remodelado óseo más sensibles y útiles en la clínica serían CTX sérico —cuando usamos un antirresortivo— y PINP —para fármacos anabólicos. Su determinación, después de 2 o 3 meses de tratamiento, ofrece la ventaja destacable de poder valorar la efectividad de la medicación y tranquilizar a los pacientes sin tener que esperar entre 12 y 24 meses para documentar los cambios en la DMO²³.

Predicción de la respuesta al tratamiento

Diversos estudios han demostrado la asociación entre la modificación de los marcadores de recambio óseo después del tratamiento antirresortivo o anabólico y la eficacia antifractura a largo plazo. En un metaanálisis de 18 ensayos clínicos, se observó que, durante la terapia con un fármaco antirresortivo, una disminución del 70% en los marcadores de resorción reducía el riesgo de fractura no vertebral en un 40%, y una disminución del 50% de los marcadores de formación reducía este riesgo en un 44%²⁴. En este sentido, se ha evidenciado que un aumento en los marcadores de formación, como el PIP y la FAO, al mes de iniciarse el tratamiento con teriparatida se asocia a una mejoría en la estructura ósea²⁵.

Sin embargo, el umbral óptimo para cada marcador no está bien establecido y además no existen datos sobre los resultados a largo plazo cuando los biomarcadores se reducen por debajo del intervalo de referencia. Algunos investigadores apoyan la hipótesis de que podría interferir en la reparación ósea fisiológica de «microcracks» y, por lo tanto, conducir a una mayor fragilidad ósea²⁶.

Selección de pacientes a quienes tratar

Se ha señalado que los pacientes con una mayor elevación de los marcadores de recambio óseo responden mejor a la terapia antirresortiva. En un estudio prospectivo a 2 años en mujeres con terapia hormonal sustitutiva se demostró que las pacientes situadas en cuartiles más altos para la excreción urinaria de NTX presentaban mayor ganancia ósea²⁷.

Teóricamente, los niveles de referencia de los biomarcadores podrían ser utilizados para orientar decisiones de tratamiento de forma más racional. Sin embargo, la mayoría de los ensayos clínicos han demostrado que la eficacia antifractura es, en gran medida, independiente del nivel de referencia de los marcadores de remodelado óseo. Por lo tanto, actualmente no se admite dicha utilidad en la práctica clínica²⁸.

Predicción del riesgo de fractura

La DMO medida por DXA continúa siendo el mejor predictor de riesgo de fractura. No obstante, la DMO no lo explica todo y se deben tener en cuenta otras variables, entre ellas la tasa de recambio óseo. Los datos de algunos estudios prospectivos en mujeres posmenopáusicas de edad avanzada muestran una asociación, independiente de la DMO, entre los índices de recambio óseo y el riesgo de fracturas osteoporóticas, si bien los resultados son discordantes, sobre todo en lo que se refiere a los marcadores de formación ósea²⁹. Niveles elevados de marcadores de resorción se han relacionado con un incremento aproximado del doble de riesgo de fracturas vertebrales y no vertebrales en comparación con

mujeres en las que dichos marcadores presentaban niveles normales. En el estudio EPIDOS se obtuvieron resultados concordantes con este hecho: en las mujeres de edad más avanzada, el incremento de marcadores de resorción ósea en orina (CTX) se asociaba, tras un ajuste de la DMO, con un aumento del riesgo de fractura de cadera. Esto sugiere que un enfoque combinado, utilizando la DMO y los marcadores bioquímicos de remodelado óseo, podría mejorar la predicción del riesgo de fractura en mujeres posmenopáusicas, ya que este riesgo aumenta en quienes presentan DMO baja y/o marcadores de remodelación ósea elevados³⁰.

Predicción de pérdida ósea

Otra utilidad destacada de estos biomarcadores consiste en la posibilidad de identificar a las mujeres que van a presentar una tasa alta de pérdida de masa ósea en los años siguientes a la menopausia, con objeto de iniciar una estrategia preventiva de la osteoporosis. Como ya es conocido, la densitometría ósea es un importante predictor del riesgo de fractura, pero una sola medida no permite augurar la tasa de pérdida ósea. Diversos estudios han demostrado que los marcadores de recambio óseo pueden ser útiles en la determinación de la velocidad de pérdida ósea¹, ofreciendo un mayor poder predictivo los marcadores de resorción que los de formación^{5,31}.

Recientemente, se ha revisado en algunos trabajos la asociación de los biomarcadores con la pérdida de masa ósea en diferentes localizaciones esqueléticas. La relación más consistente ha sido la detectada a nivel del radio distal y calcáneo. En la cadera, la relación es más modesta, mientras que en la columna lumbar es prácticamente despreciable. Este último dato podría deberse a la elevada prevalencia de artrosis vertebral en pacientes de edad avanzada. En resumen, los marcadores de recambio óseo junto con otras variables demográficas podrían predecir el 30-40% de la variación en la pérdida ósea en las mujeres posmenopáusicas no tratadas. No obstante, aún no se ha establecido el umbral de recambio óseo a partir del cual se debe intervenir para prevenir la pérdida ósea³².

Limitaciones en el uso de marcadores de remodelado óseo

En los últimos años se han desarrollado múltiples técnicas para determinar la concentración de los marcadores específicos del remodelado óseo. Numerosos ensayos han demostrado que las concentraciones de dichos marcadores permiten distinguir a grupos de pacientes en diferentes situaciones de recambio óseo. No obstante, no se puede soslayar el hecho de que los marcadores de remodelado óseo presentan una notable variabilidad, tanto analítica como biológica, cuyo conocimiento es imprescindible para la correcta interpretación de los valores obtenidos.

Las causas de variabilidad pueden dividirse en premetrológicas y metrológicas. Entre las primeras destacan: edad, sexo, etnia, reparación de fracturas, función renal y hepática, otras enfermedades asociadas, etc. Todas ellas no pueden ser controladas y, para minimizar su efecto, sería preciso usar valores de referencia adecuados para cada circunstancia, algo muy difícil en la práctica clínica. Otras fuentes de variabilidad premetrológicas que sí podrían ser minimizadas son: dieta, ejercicio físico, ritmos circadianos, cambios estacionales. La variabilidad metrológica dependerá del método de medida empleado en la determinación de dichos marcadores. La automatización de estas técnicas ha permitido mejorar su reproducibilidad^{5,33}. Por lo tanto, conociendo lo anterior, es importante determinar la hora de recogida de las muestras de acuerdo con el ritmo circadiano de cada marcador. Algunos marcadores en particular están muy influidos por la ingesta, como es el caso del CTX sérico. La determinación en orina obligará a ajustar los resultados según la excreción de creatinina. Es conveniente saber que

la mayoría de los marcadores de remodelado óseo se correlacionan positivamente con la edad, por lo que el clínico debe conocer los rangos de referencia en función de esta. En términos generales, se estima que la variabilidad de los marcadores medidos en orina es del 20-30% y de los medidos en suero del 10-15%³⁴.

Conclusiones

Los marcadores bioquímicos del remodelado óseo han contribuido a un mejor conocimiento de la fisiología ósea y la patogenia de las enfermedades metabólicas óseas. Aunque no se consideran apropiados para el diagnóstico de osteoporosis, sí pueden aportar información adicional y complementaria a la suministrada por la DMO en el estudio de estos pacientes y ser útiles para el clínico a la hora de seleccionar a la población susceptible de tratamiento y de valorar la eficacia de este. En la actualidad, los marcadores de formación más sensibles en la osteoporosis posmenopáusia son FAO, OC y PINP, mientras que entre los marcadores de resorción destacan las formas telopeptídicas: CTX en suero y NTX en orina¹³. Aun así, debido a su amplia variabilidad analítica y biológica, y teniendo en cuenta la evidencia de que se dispone, no se recomienda su determinación sistemática en la evaluación de los pacientes con osteoporosis.

Bibliografía

- Torres E, Mezquita P, De la Higuera M, Fernández D, Muñoz M. Actualización sobre la determinación de marcadores de remodelado óseo. *Endocrinol Nutr*. 2003;50:237-43.
- Ebeling P, Akesson K. Role of biochemical markers in the management of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2001;15:385-400.
- Szulc P, Delmas P. Biochemical markers of bone turnover: potential use in the investigation and management of postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2008;19:1683-704.
- Camacho P, Kleerekoper M. Biochemical markers of bone turnover. En: Murray J. Favus, editor. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 6.ª ed. Washington: American Society for Bone and Mineral Research; 2006. p. 127-33.
- Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2000;11 Suppl 6:2-17.
- Clowes JA, Hannon RA, Yap TS, Hoyle NR, Blumsohn A, Eastell R. Effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone*. 2002;30:886-90.
- Brown JP, Albert C, Nassar BA, Adachi JD, Cole D, Davison KS, et al. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. *Clin Biochem*. 2009;42:929-42.
- Booth SL, Broe KE, Peterson JW, Cheng DM, Dawson-Hughes B, Gundberg CM, et al. Associations between vitamin K biochemical measures and bone mineral density in men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4904-9.
- Calvo MS, Eyre D, Gundberg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr Rev*. 1996;17:333-68.
- Robins SP, Duncan A, Riggs BL. Direct measurement of free hydroxypyridinium crosslinks of collagen in urine as new markers of bone resorption in osteoporosis. En: Christiansen C, Overgaard K editores *Osteoporosis Copenhagen*: Osteopress. 1990:465-8.
- Miller P, Hochberg M, Wehren LE, Ross PD, Wasnich RD. How useful are measures of BMD and bone turnover? *Curr Med Res Opin*. 2005;21:545-54.
- De la Piedra C, Díaz MA. Correlación entre el telopeptido carboxiterminal del colágeno tipo I y la densidad mineral ósea medida por DEXA en la osteoporosis postmenopáusica. *REEMO*. 1992;1 Suppl B:30.
- Garnero P. New biochemical markers of bone turnover. *IBMS Bonekey*. 2008;5:84-102.
- Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Väänänen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption. *J Bone Miner Res*. 2000;15:1337-45.
- Srivastava AK, Mohan S, Singer FR, Baylink DJ. A urine midmolecule osteocalcin assay shows higher discriminatory power than a serum midmolecule osteocalcin assay during short-term alendronate treatment of osteoporotic patients. *Bone*. 2002;31:62-9.
- Navarro L, Blázquez JA, Del Pino J, Almar R, Cháfer M, Mateos F. Utilidad clínica de los marcadores bioquímicos de remodelado óseo en la mujer posmenopáusica reciente: estudio longitudinal a 2 años. *Med Clin (Barc)*. 2008;131:333-8.
- Melton LJ, Khosla S, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Riggs BL. Relationship of bone turnover to bone density and fractures. *J Bone Miner Res*. 1997;12:1083-91.
- Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79:1693-700.
- Delmas PD, Bjarnason NH, Mitlak BH, Ravoux AC, Shah AS, Huster WJ, et al. Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 1997;337:1641-7.
- Singh MD, Frederick R, Eyre D, David R. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice. *Cleve Clin J Med*. 2008;75:739-50.
- Chen P, Satterwhite JH, Licata AA, Lewiecki EM, Sipes AA, Misurski DM, et al. Early changes in biochemical markers of bone formation predict BMD response to teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2005;20:962-70.
- Eastell R, Kregg JH, Chen P, Glass EV, Reginster J-Y. Development of an algorithm for using PINP to monitor treatment of patients with teriparatide. *Curr Med Res Opin*. 2006;22:61-6.
- Riggs BL, Melton LJ, O'Fallon WM. Drug therapy for vertebral fractures in osteoporosis: evidence that decreases in bone turnover and increases in bone mass both determine antifracture efficacy. *Bone*. 1996;18:197-201.
- Hochberg MC, Greenspan S, Wasnich RD, Miller P, Thompson DE, Ross PD. Changes in bone density and turnover explain the reductions in incidence of nonvertebral fractures that occur during treatment with antiresorptive agents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1587-9.
- Dobnig H, Sipes A, Jiang Y, Fahrleitner A, Ste-Marie LG, Gallagher JC, et al. Early changes in biochemical markers of bone formation correlate with improvements in bone structure during teriparatide therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:3970-7.
- Mashiba T, Hirano T, Turner CH, Forwood MR, Johnston CC, Burr DB. Suppressed bone turnover by bisphosphonates increases microdamage accumulation and reduces some biomechanical properties in dog rib. *J Bone Miner Res*. 2000;15:613.
- Chesnut CH, Bell MD, Clark MD, Drinkwater PB, English MDSC, Johnston CC, et al. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: urinary n-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. *Am J Med*. 1997;102:29-37.
- Seibel MJ, Naganathan V, Barton I, Grauer A. Relationship between pretreatment bone resorption and vertebral fracture incidence in postmenopausal osteoporotic women treated with risedronate. *J Bone Miner Res*. 2004;19:323-9.
- Garnero P. Biomarkers for osteoporosis management: utility in diagnosis, fracture risk prediction and therapy monitoring. *Molecular Diagnosis & Therapy*. 2008;12:157-70.
- Robbins JA, Schott AM, Garnero P, Delmas PD, Hans D, Meunier PJ. Risk factors for hip fracture in women with high BMD: EPIDOS study. *Osteoporosis Int*. 2005;16:149-54.
- Ross PD, Knowlton W. Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers. *J Bone Miner Res*. 1998;13:297-302.
- Vasikaran SD. Utility of biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in management of osteoporosis. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2008;45:221-58.
- Vesper HW, Demers LM, Eastell R, Garnero P, Kleerekoper M, Robins SP, et al. Assessment and recommendations on factors contributing to preanalytical variability of urinary pyridinoline and deoxypyridinoline. *Clin Chem*. 2002;48:220-35.
- Miller PD, Baran DT. Practical clinical application of biochemical markers of bone turnover. *J Clin Densitometry*. 1999;2:323-42.